

(11)Publication number : 09-249556

(43)Date of publication of application : 22.09.1997

(51)Int.Cl. A61K 31/195

A61K 31/40  
A61K 31/415  
A61K 35/64  
A61K 38/48  
C07C229/08  
C07C229/22  
C07C229/24  
C07C229/26  
C07C229/36  
C07C237/22  
C07C257/14  
C07D207/16

(21)Application number : 09-002295 (71)Applicant : RIKAGAKU  
KENKYUSHO

(22)Date of filing : 09.01.1997 (72)Inventor : ABE TAKESHI  
TSUCHIDA HIROSHI  
IIDA KOJI

(30)Priority

Priority number : 08 1547  
Priority date : 09.01.1996  
Priority country : JP

(54) AMINO ACID COMPOSITION

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To prepare an amino acid composition having effects for supplementing the decrease of amino acids in blood due to strong physical exercises, reducing the changes in the concentrations of the amino acids in the blood, improving motor functions, reducing fatigues after excises and recovering from the fatigues.

SOLUTION: This amino acid composition contains the following amino acids in the following molar ratio. Proline (12.6-23.4), alanine (8.4-15.6), glycine (13.3-24.9), valine (8.2-15.4), threonine (5.0-9.4), leucine (4.3-8.1), histidine (1.8-11.9), serine (1.7-3.3), lysine (6.0-11.2), isoleucine (3.1-5.9), glutamic acid (2.2-10.4), arginine (2.4-4.6), phenylalanine (2.6-5.0), tyrosine (4.2-7.8), and trypsin (1.5-2.9).

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-249556

(43) 公開日 平成9年(1997)9月22日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/195	ADD		A 6 1 K 31/195	ADD
31/40			31/40	
31/415			31/415	
35/64			35/64	
38/48		9450-4H	C 0 7 C 229/08	
審査請求 未請求 請求項の数 3 O L (全 14 頁) 最終頁に続く				

(21) 出願番号 特願平9-2295

(22) 出願日 平成9年(1997)1月9日

(31) 優先権主張番号 特願平8-1547

(32) 優先日 平8(1996)1月9日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 000006792

理化学研究所

埼玉県和光市広沢2番1号

(72) 発明者 阿部 岳

埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所

内

(72) 発明者 土田 博

東京都保谷市本町1-6-6

(72) 発明者 飯田 耕司

東京都中央区八丁堀3-28-14

(74) 代理人 弁理士 中村 稔 (外6名)

(54) 【発明の名称】 アミノ酸組成物

(57) 【要約】

【課題】 激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、血中アミノ酸濃度の変動を抑制し、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有するアミノ酸組成物を提供すること。

【解決手段】 下記のアミノ酸を下記のモル比で含むアミノ酸組成物。プロリン(12.6~23.4)、アラニン(8.4~15.6)、グリシン(13.3~24.9)、バリン(8.2~15.4)、スレオニン(5.0~9.4)、ロイシン(4.3~8.1)、ヒスチジン(1.8~11.9)、セリン(1.7~3.3)、リジン(6.0~11.2)、イソロイシン(3.1~5.9)、グルタミン酸(2.2~10.4)、アルギニン(2.4~4.6)、フェニルアラニン(2.6~5.0)、チロシン(4.2~7.8)、トリプトファン(1.5~2.9)。

## 【特許請求の範囲】

\*ミノ酸組成物。

【請求項1】 下記のアミノ酸を下記のモル比で含むア \*

プロリン	12.6~23.4	モル
アラニン	8.4~15.6	モル
グリシン	13.3~24.9	モル
バリン	8.2~15.4	モル
スレオニン	5.0~9.4	モル
ロイシン	4.3~8.1	モル
ヒスチジン	1.8~11.9	モル
セリン	1.7~3.3	モル
リジン	6.0~11.2	モル
イソロイシン	3.1~5.9	モル
グルタミン酸	2.2~10.4	モル
アルギニン	2.4~4.6	モル
フェニルアラニン	2.6~5.0	モル
チロシン	4.2~7.8	モル
トリプシン	1.5~2.9	モル

【請求項2】 ヒスチジンのモル比が6.4~11.9モル、グルタミン酸のモル比が5.6~10.4モルである請求項1記載のアミノ酸組成物。

【請求項3】 請求項1又は2記載のアミノ酸組成物を含有する補液。

## 【発明の詳細な説明】

## 【発明の技術分野】

【0001】本発明は、スズメバチ (*Vespa* 属) の幼虫が分泌するだ液に含まれるアミノ酸類で構成される組成物の知見から得られたアミノ酸組成物に関し、さらに詳しくは、激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有するアミノ酸組成物及びそれを含有する補液に関する。

## 【0002】

【従来の技術】従来、スズメバチの幼虫に関する報告、特に幼虫が分泌するだ液に関する報告はほとんどなく、その組成は全く解明されていなかった。またスズメバチの驚異的な筋持続力はどのような栄養に由来するのかも全く不明であった。本発明者らは、種々のスズメバチの幼虫が分泌するだ液について研究し、その組成を明らかにするとともに、その組成物が極めて有効な脂質、糖質代謝調節作用を有することを見出し、その有効成分を解明してきた。スズメバチの幼虫が分泌するアミノ酸栄養液は、経口投与により運動時の脂質及び糖質代謝を調節することが明らかになっている (例えば、特開平3-128318号公報、特開平4-95026号公報、特開平4-112825号公報、特開平4-120020号公報参照)。

【0003】本発明者は既に、スズメバチ栄養液が運動時に疲労物質の生成を抑制し、血糖値の低下を防ぎ、さらに運動能力の向上をもたらすことを明らかにしている。その作用機作は運動時のエネルギーとして脂肪の利

用を促進する働きであることを示した。この栄養液の主成分であるVAAM (*Vespa Amino Acid Mixture*) は、上記の作用の他にも運動に伴う疲労の回復など様々な効果が示唆されている。一方、運動による疲労で血液中のアミノ酸バランスが大きく崩れることが知られている。これは運動に伴うストレスによる体組織の磨耗、破壊の結果もたらされるものと考えられる。しかしながら、今日に至るまで、その生理的な意味と重大性に付いて全く注意が向けられていない。

【0004】本発明者はさらに運動後の血中アミノ酸濃度とVAAMのアミノ酸組成について検討した結果、VAAMのアミノ酸組成は運動による疲労で減少する血中アミノ酸と極めて高い相関を示していることを見出した。つまり、疲労により、減少の激しいアミノ酸ほどVAAM中に多く含まれることが明らかになった。従って、これらのアミノ酸の補填は運動機能の向上と疲労の改善に不可欠であると考えられる。本発明は、上記のとおり、ヒトにおいて運動による疲労で減少する血中アミノ酸がVAAMのアミノ酸組成と極めて高い相関を示しているという発見に基づいて完成されたものである。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有するアミノ酸組成物、特に補液を提供することである。本発明の他の目的は、激しい運動に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制しその保持を高める方法及びそれに使用するアミノ酸組成物、特に補液を提供することである。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記のアミノ酸を下記のモル比で含むアミノ酸組成物 (以下「HVAAM」ということもある。) である。

3

4

プロリン	12.6~23.4	モル
アラニン	8.4~15.6	モル
グリシン	13.3~24.9	モル
バリン	8.2~15.4	モル
スレオニン	5.0~9.4	モル
ロイシン	4.3~8.1	モル
ヒスチジン	1.8~11.9	モル
セリン	1.7~3.3	モル
リジン	6.0~11.2	モル
イソロイシン	3.1~5.9	モル
グルタミン酸	2.2~10.4	モル
アルギニン	2.4~4.6	モル
フェニルアラニン	2.6~5.0	モル
チロシン	4.2~7.8	モル
トリプシン	1.5~2.9	モル

【0007】本発明はまた、HVAAMを哺乳動物に投与することを特徴とする運動に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制する方法を提供するものである。本発明はさらに、VAAMのアミノ酸組成、又はその各構成アミノ酸のモル比の±30%（好ましくは±20%、さらに好ましくは±10%）の範囲内の割合でアミノ酸を含む組成物、すなわち、下記のアミノ酸を下記のモル比で含

\*む、運動に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制するためのアミノ酸組成物（以下これらのアミノ酸組成物を総称して「VAAM」ということもある。）、及びこのアミノ酸組成物を哺乳動物に投与することを特徴とする運動に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制する方法を提供するものである。

プロリン	12.6~23.4	モル
アラニン	4.2~7.8	モル
グリシン	13.3~24.9	モル
バリン	4.1~7.7	モル
スレオニン	5.0~9.4	モル
ロイシン	4.3~8.1	モル
ヒスチジン	1.8~3.8	モル
セリン	1.7~3.3	モル
リジン	6.0~11.2	モル
イソロイシン	3.1~5.9	モル
グルタミン酸	2.2~4.2	モル
アルギニン	2.4~4.6	モル
フェニルアラニン	2.6~5.0	モル
チロシン	4.2~7.8	モル
トリプシン	1.5~2.9	モル

【0008】本発明はさらに、激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有するアミノ酸組成物を製造するためのHVAAMの使用；激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有するアミノ酸組成物を製造するためのVAAMの使用；血中アミノ酸濃度の変動を抑制しその保持を高めるためのアミノ酸組成物を製造するための

HVAAMの使用；血中アミノ酸濃度の変動を抑制しその保持を高めるためのアミノ酸組成物を製造するためのVAAMの使用に関する。

【0009】

【発明の実施の形態】本発明の好ましいアミノ酸組成物（HVAAM）は、下記のアミノ酸を下記のモル比で含む。

プロリン	14.4~21.6	モル
アラニン	9.6~14.4	モル
グリシン	15.2~23.0	モル
バリン	9.4~14.2	モル
スレオニン	5.8~8.7	モル

5

6

ロイシン	5. 0 ~ 7. 5	モル
ヒスチジン	2. 0 ~ 11. 0	モル
セリン	2. 0 ~ 3. 0	モル
リジン	6. 8 ~ 10. 4	モル
イソロイシン	3. 6 ~ 5. 4	モル
グルタミン酸	2. 5 ~ 9. 6	モル
アルギニン	2. 8 ~ 4. 2	モル
フェニルアラニン	3. 0 ~ 4. 6	モル
チロシン	4. 8 ~ 7. 2	モル
トリプシン	1. 7 ~ 2. 7	モル

【0010】本発明の更に好ましいアミノ酸組成物 (HVAAM) は、下記のアミノ酸を下記のコモル比で含む。

プロリン	16. 2 ~ 19. 8	モル
アラニン	10. 8 ~ 13. 2	モル
グリシン	17. 1 ~ 21. 1	モル
バリン	10. 6 ~ 13. 0	モル
スレオニン	6. 4 ~ 8. 0	モル
ロイシン	5. 5 ~ 6. 8	モル
ヒスチジン	2. 3 ~ 10. 1	モル
セリン	2. 2 ~ 2. 8	モル
リジン	7. 7 ~ 9. 5	モル
イソロイシン	4. 0 ~ 5. 0	モル
グルタミン酸	2. 8 ~ 8. 8	モル
アルギニン	3. 1 ~ 3. 9	モル
フェニルアラニン	3. 4 ~ 4. 2	モル
チロシン	5. 4 ~ 6. 6	モル
トリプシン	1. 9 ~ 2. 5	モル

【0011】本発明の組成物 (HVAAM) において、ヒスチジンのモル比は、好ましくは6. 4~11. 9モル、更に好ましくは7. 2~11. 0モル、最も好ましくは8. 1~10. 1モルである。また、グルタミン酸のモル比は、好ましくは5. 6~10. 4モル、更に好ましくは6. 4~9. 6モル、最も好ましくは7. 2~8. 8モルである。

【0012】本発明のアミノ酸組成物に使用するアミノ酸は、特にL-アミノ酸であることが好ましい。本発明のアミノ酸組成物は上記アミノ酸の他に、メチオニン (好ましくは0. 3~0. 7モル%、更に好ましくは0. 4~0. 6モル%)、アスパラギン酸 (好ましくは0. 1~0. 3モル%)、タウリン (Tau) (好ましくは3モル%以下)、リン酸エタノールアミン (P-EtAm) (好ましくは2モル%以下)、シスチン (Cys) (好ましくは0. 5モル%以下)、 $\beta$ -アラニン ( $\beta$ -Ala) (好ましくは1モル%以下)、 $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) (好ましくは0. 5モル%以下)、オルニチン (Orn) 又はエタノールアミン (EtAm) (好ましくは3モル%以下)、アンモニア (NH<sub>3</sub>) (好ましくは2モル%以下)、1-メチルヒスチジン (1-MeHis) (好ましくは3モル%以下)、3-メチルヒスチジン (3-MeHis) (好ましくは1モル%以下) を含んでいてもよい。

【0013】本発明のアミノ酸組成物を製造するにあ

つては、市販の上記アミノ酸を上記の所定割合で混合すれば良い。また補液として使用する場合にはこれを、蒸留水に溶解すれば良い。通常は粉末状で均一に混合して組成物としておき、用事蒸留水に溶解すれば良い。本発明の組成物を製造、保存する温度は特に限定されないが、室温以下で製造、保存することが好ましい。本発明の組成物は微弱な苦味を呈し、マウスに経口投与した場合20g/kgでも全く毒性を発現せず、LD<sub>50</sub>は20g/kgを遥かに上まわる。

【0014】本発明の組成物は、医薬又は飲料等の食品として有用である。医薬として用いる場合の投与形態は特に限定されないが、経口投与、直腸投与、注射、輸液による投与等の一般的投与経路を経ることができる。経口投与の場合には、上記組成を有する組成物として、あるいは医薬上許容される担体、賦形剤とともに錠剤、カプセル剤、散剤、トローチ剤、シロップ剤等の製剤として用いてもよい。ただし、錠剤や散剤等の固形製剤では吸収に時間がかかる場合もあるので、液剤等による経口投与が好ましい。その場合には、適当な添加物、例えば塩化ナトリウム等の塩類、緩衝剤、キレート剤等とともに水溶液として投与することが好ましい。また、注射剤としては、適当な緩衝剤、等張剤等を添加し、滅菌蒸留水に溶解したものを用いて、例えば静脈内に点滴静注すればよい。食品として用いる場合には、適当な風味を加

えてドリンク剤、例えば清涼飲料や粉末飲料、例えば、スプレードライ法、凍結乾燥法、マイクロファインパウダー法等により作成した粉末をカプセル化したもの、あるいは錠剤の形態とすることができる。

【0015】本発明の組成物は極めて低毒性であり、投与量は非常に広範に設定できる。投与量は、投与方法、使用目的により異なるが、組成物の固形分として通常、1回1～12g、一日の投与量として3～18g、好ましくは1回に2～4g、1日投与量として6～12gである。本発明の組成物を、運動開始前、運動中、または運動後の補液として使用する場合、0.8～1.5重量%溶液として、1日当たり200～500mlを1～3回投与すればよい。注射剤としては0.8～1.5重量%溶液として1回あたり100～400ml、好ましくは150～300mlを投与すればよい。

【0016】

【実施例】以下に本発明を試験例及び実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されることはない。

\*

アミノ酸の種類	アミノ酸の濃度 (μモル/L)		減少率	
	運動前(A)	運動後(B)	減少量(A-B)	$[(A-B)/A] \times 100$
Pro	160.70			
Ala **	309.50	222.50	87.00	28.11
Gly **	206.20	140.20	66.00	32.01
Val **	214.50	150.00	64.50	30.07
Thr **	130.70	106.10	24.60	18.82
Leu **	114.00	92.40	21.60	18.95
His **	62.40	42.00	20.40	32.70
Ser **	113.40	101.10	12.30	10.85
Lys	147.90	135.90	12.00	8.11
Ile **	67.00	55.30	11.70	17.46
Glu **	22.40	16.10	6.30	28.13
Arg	63.80	57.80	6.00	9.40
Met	24.90	23.40	1.50	6.02
Cys	43.70	43.10	0.60	1.37
Asp	2.80	4.30	-1.50	-53.57
Phe	45.60	48.60	-3.00	-6.58
Tyr	53.90	59.90	-6.00	-11.13
Trp	36.80			

【0019】運動に伴う血中アミノ酸組成の変動とVAAMのアミノ酸組成との比較

疲労するまでの激しい運動によって血中アミノ酸は著しく減少するものとあまり変動しないもの、そして僅かに増えるものの三つのグループに分かれた。有意差(0.05<p)をもって減少したアミノ酸(\*\*を付した)は、アラニン、グリシン、バリン、スレオニン、ロイシン、ヒスチジン、セリン、イソロイシン、グルタミン酸等であった。また、有意差を示し増加したアミノ酸はチロシンであった。有意差を示さず増加したアミノ酸はフェニルアラニンとアスパラギン酸であった。同様に有意

\*【0017】試験例1 (人による運動実験)

この試験は、人の運動前と運動後の血中アミノ酸組成の変化を調べるためのものである。

(1) 血中アミノ酸の定量

検体として血液0.1mlを採り、同量の1N過塩素酸を加え、蛋白の変性を行った後、遠心により上清を50μl採り、アミノ酸分析用サンプルダイリューターを1ml加えて分析サンプルとした。アミノ酸は日立アミノ酸分析機835を用いてニンヒドリン法で分析した。

(2) 人体テスト

被検者は室温(24℃)において90分間トレッドミル上で70%VO<sub>2</sub> max (最大酸素摂取量の70%)の負荷のもとで走り、その後、自転車エルゴメーターで90分間疲労するまで運動し、運動開始時と運動後に採血した血液中のアミノ酸組成を分析した。結果を表1に示す。

【0018】

【表1】

差を示さず減少したアミノ酸はリジン、アルギニン、メチオニン、シスチン及びトリプトファンであった。これらのうち有意に減少するアミノ酸はVAAMの成分として高い含有量を示していた(図1)。図1において、AはVAAMのアミノ酸組成(モル%)を示し、Bは表1に示した運動後の血中アミノ酸の減少量(μモル/L)を示している。このことはVAAMの運動に対するアミノ酸組成物としての有用性を示している。

【0020】実施例1

VAAMのアミノ酸組成と運動に伴う血中アミノ酸の減少率の間の相関性とその結果に基づくヒト・アミノ酸組

成物 (HVAAM) の作製とその効果

図1から示唆されるようにアラニンとバリンのVAAM中の含有量 (A) は、ヒトにおける運動後の減少量

(B) に比べて少ない。また、ヒスチジンやグルタミン酸は既に明らかにしたように脂質誘導効果を示さない。これらの点を考慮して、運動後の血中に含まれる各アミノ酸の減少率 (%) を、VAAMに含まれるアミノ酸の含有モル比に対してプロットしたものが図2である。図2から、運動後の血中アミノ酸の減少率 (%) は、VAAMに含まれるアミノ酸の含有モル比にほぼ相関していることがわかる ( $r=0.84$ )。この結果は、VAAMの運動時における有用性を強く示唆するものである。しかしながら、図2から明らかなように、アラニン、バリン、ヒスチジン及びグルタミン酸はこの相関回帰直線から著しく外れて減少している。このためこの相関性に合わせてこれらのアミノ酸の量を増大させたアミノ酸組成物は、VAAMよりも更に優れたヒトに対する運動機能増進、疲労回復効果に優れていることが期待される。 \*

\*【0021】図2に示した相関関係を示す直線から期待される減少率に比べて、ヒスチジンは3.5倍、グルタミン酸は2.5倍、バリンとアラニンはそれぞれ2倍高い減少率を示している。従って、VAAMと同一組成のアミノ酸組成物においてこの4種のアミノ酸の量をそれぞれ増大させたものが本発明のアミノ酸組成物である。これらのアミノ酸を補填することによって、ヒトの運動機能増進や疲労回復に対してより適切なアミノ酸組成物とすることができる。そのアミノ酸組成物 (HVAAM) の一例を表2に示す (HVAAMA)。更に、比較的、含有量も低く、脂肪誘導効果の少ないヒスチジンとグルタミン酸は補填しなくても、目的とする効果の低下は見られない。その一例を表2に合わせて示す (HVAAMB)。実際、表2のA及びBに示したアミノ酸組成物の1.5重量%水溶液を、運動後、300ml経口投与することにより、運動後の疲労感や筋肉痛が著しく改善された。

【表2】

アミノ酸 の種類	アミノ酸の濃度 (モル比)			
	VAAM	HVAAMA	HVAAMB	CAAM
Pro	18.00	18.00	18.00	8.50
Ala	6.00	12.00	12.00	4.50
Gly	19.10	19.10	19.10	4.50
Val	5.90	11.80	11.80	5.50
Thr	7.20	7.20	7.20	2.50
Leu	6.20	6.20	6.20	8.50
His	2.60	9.10	2.60	2.50
Ser	2.50	2.50	2.50	8.00
Lys	8.60	8.60	8.60	7.00
Ile	4.50	4.50	4.50	5.50
Glu	3.20	8.00	3.20	19.60
Arg	3.50	3.50	3.50	3.00
Met	0.50	0.50	0.50	2.50
Asp	0.20	0.20	0.20	7.50
Phe	3.80	3.80	3.80	4.00
Tyr	6.00	6.00	6.00	5.00
Trp	2.20	2.20	2.20	1.00
Cys	—	—	—	0.40

【0022】本発明の組成物において各アミノ酸のモル比は、表2に示したHVAAMA及びBの各アミノ酸のモル比の±30%、好ましくは±20%、さらに好ましくは±10%程度であれば好適に使用できる。

【0023】試験例2 (持久運動時の運動負荷を軽減する効果)

この試験は、本発明の組成物 (HVAAM) を運動前に投与することにより、持久運動時の運動負荷が軽減することを、マウスを用いた実験により確認したものである。実験は、Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1995, 44:225-238記載の方法により行った。すなわち、マウス (雄; ddY) (5週齢) (各群10匹) を室温で16時間

絶食させた後、表2に記載の組成物VAAM及び組成物HVAAMBを、1.8重量%水溶液として、37.5μl/g体重、経口投与し、次いで室温で30分間休ませた。これを、流水プール (直径32cm、深さ30cmの円筒型の水槽に水を入れ、35℃に保持し、循環装置で8m/分の速度の水流を作ったもの) の中で、30分間遊泳させた。遊泳後のマウスの血中乳酸値、血糖 (グルコース) 値、及び血中遊離脂肪酸値を測定した。結果を図3、図4及び図5に示す。VAAM投与群と比較して、HVAAMB投与群は、30分間の負荷遊泳後、血中乳酸値が低く (図3)、これとは逆に、血糖値 (図4) 及び血中遊離脂肪酸値 (図5) は、HVAAMB投与群の方が有意に

高い値を示した。これらの結果は、HVAAMが、運動に伴う運動負荷を、VAAMより更に軽減することを示している。

【0024】試験例3（血中アミノ酸組成の変動を抑制しその保持を高める効果）

この試験は、運動前のHVAAM投与が、運動時の血中アミノ酸濃度の低下を抑制することを、マウスを用いた実験により確認したものである。実験は、Jpn. J. Phys. Fitness Sports Med. 1995, 44:225-238記載の方法により行った。すなわち、マウス（雄；ddY）（5週齢）

（各群10匹）を室温で16時間絶食させた後、表2に記載のHVAAMB、CAAM（カゼインアミノ酸混合物）又はグルコースの1.8重量%水溶液又は蒸留水を、37.5  $\mu$ l/g体重、経口投与した後、室温で30分間休ませた。これを、流水プール中で、30分間遊泳させた。遊泳後のマウスの血中全アミノ酸濃度の減少を図6に、無投与群（蒸留水投与群）に対する各栄養液投与群の血中各アミノ酸濃度の変動を図7に示す。図6に示すように、HVAAMBを投与した場合には、運動による血中アミノ酸（全アミノ酸）の濃度低下が、CAAM投与の場合と比較して1/2、グルコース投与の場合と比較して1/2、3/7、水投与の場合と比較して1/2、1に減少することがわかる。HVAAMBを投与した場合に濃度が低下するアミノ酸についてみると、図7に示すように、アルギニン、ヒスチジン、メチオニン、アスパラギン酸が僅かに減少しているが、他のアミノ酸、特にグリシン、リジン、バリン、グルタミン酸、及びスレオニンは、CAAMやグルコース投与の場合と比較して濃度低下が少ないことがわかる。これは、血中非エステル化脂肪酸濃度の上昇に伴う脂肪酸の酸化促進により、TCAサイクルにおいて、これらのアミノ酸の利用が抑制されていることを示唆するものである。

【0025】試験例4（血中アミノ酸組成の変動を抑制しその保持を高める効果）

この試験は、運動前のVAAM投与が、運動時の血中アミノ酸濃度の低下を抑制することを、ラットを用いた実験により確認したものである。ラット（Sprague Dawley rats;雄）（6週齢）（各群8匹；平均体重190g）を一夜絶食させた後、表2に記載のVAAM、CAAM（カゼインアミノ酸混合物）の3.8重量%水溶液又は蒸留水0.4mlを経口投与し、次いで室温で30分間休ませた。次に、7°に傾斜したモーター駆動ロードントレッドミル（23m/分）で90分間ランニングさせた。血液サンプルを試験液の投与前（-30分）、ランニングスタート時（0分）、中間点（45分）及び最後（90分）に採取し、乳酸、グルコース及び非エステル化脂肪酸（NEFA）の濃度を測定した。ランニングをさせない他は全く同様に処理したラットについても同様の測定を行った。結果を図8～図12に示す。

【0026】図8～図10は、VAAM、CAAM又は

蒸留水の投与が、ラットの血中グルコース濃度、血中乳酸濃度及び血中非エステル化脂肪酸濃度に及ぼす効果を示すものである。図8～図10において、（a）は、ランニング群、（b）は非ランニング群を示す。\*は、VAAM投与群と比較して有意差（ $p < 0.05$ ）があることを示す。図8（a）に示すように、血中グルコース濃度は、CAAM又は蒸留水投与群では、僅かに高くなるが、45分及び90分のランニングにより、有意に低下する。これに対してVAAM投与群では、45分のランニングでは低下せず、90分のランニングでも他の2群と比較して、有意（ $p < 0.05$ ）に高い。非ランニング群（図8（b））では、血中グルコース濃度の有意（ $p < 0.05$ ）な変化は認められない。

【0027】また、図9（a）に示すように、血中乳酸濃度は、CAAM又は蒸留水投与群では、45分のランニングにより、有意（ $p < 0.05$ ）に高くなり、90分後には低くなる。これに対してVAAM投与群では、有意（ $p < 0.05$ ）な変化は認められない。非ランニング群（図9（b））では、血中乳酸濃度の有意な変化は認められない。さらに、図10に示すように、血中非エステル化脂肪酸濃度は、いずれも、投与前（0時間）において（絶食のため）低下するが、ランニングにより、CAAM及びVAAM投与群では有意に高くなり、45分後の値では、VAAM投与群が、CAAM投与群と比較して有意に高い。非ランニング群では、血中非エステル化脂肪酸濃度の有意な変化は認められない（図10（b））。

【0028】図11及び図12は、VAAM、CAAM又は蒸留水の投与が、ラットの血中アミノ酸濃度に及ぼす効果を示すものである。図11及び図12において、黒バーはVAAM投与群、斜線バーはCAAM投与群、白バーは蒸留水投与群ラットの血中各アミノ酸濃度を示す。図11（ランニング群）において、（a）は、投与前、（b）は、投与30分後（ランニング0分）、

（c）は、45分ランニング後、及び（d）は、90分ランニング後の血中アミノ酸組成を示す。図12（非ランニング群）において、（a）は、投与前、（b）は、投与30分後、（c）は、投与75分後、及び（d）は、投与120分後の血中アミノ酸組成を示す。\*は、VAAM投与群と比較して有意差（ $p < 0.05$ ）があることを示す。図11（a）及び図12（a）に示すように、試験液投与前において、3群の血中アミノ酸濃度に有意差は認められなかった。

【0029】投与30分後、ランニング群ラットの血中アミノ酸濃度は、有意に上昇した。但し、VAAM投与群では、グルタミン、メチオニン及びシスチンが、CAAM投与群では、シスチン及びグリシンが上昇しなかった（図11（b））。VAAM又はCAAM投与30分後の、非ランニング群ラットの血中アミノ酸濃度の上昇は、投与30分後の、ランニング群ラットの場合と同様



であった(図12(b))。45分ランニング後の、各アミノ酸濃度は、VAAM投与群のチロシンを除いて、すべての群において低下した(図11(c))。VAAM投与群のグリシン、アラニン、バリン、スレオニン、チロシン、リジン、及びプロリンの濃度は、蒸留水投与群と比較して有意に高い。また、VAAM投与群のグリシン、スレオニン、チロシン、及びプロリンの濃度は、CAAM投与群と比較して有意に高い。CAAM投与群のバリンとリジンの濃度は、対照群(蒸留水)と比較して有意に高いが、VAAM投与群と比較して高いものはない。

【0030】非ランニング群では、VAAM投与群において、アラニン及びリジンの濃度上昇はない(図12(c))。VAAM投与群において、非ランニング群のチロシンの濃度は、ランニング群のそれより低い、CAAM又は蒸留水投与群では、ランニング群のチロシン濃度は、非ランニング群のそれより高い。ランニング終了時、VAAM投与群のバリン、ロイシン、セリン、スレオニン、チロシン及びリジン濃度は、ランニング45分後の値と比較して殆ど低下していない(図11(d))。VAAM投与群のスレオニン、チロシン、リジン及びプロリン濃度は、蒸留水投与群のランニング90分後の値と比較して有意に高い。非ランニング群では、VAAM投与群において、スレオニン及びプロリンの濃度は、蒸留水投与120分後のランニング群のそれより高い。以上の結果は、VAAMを投与することによって運動に伴うアミノ酸の消耗が抑制されることを意味し、VAAMが、運動に伴う疲労の誘発等を抑制できることを示すものである。

#### 【0031】

【発明の効果】本発明の組成物は、激しい運動に伴う血中アミノ酸の減少を補い、運動機能の向上と運動後の疲労軽減及び疲労回復効果を有する。また、本発明の組成物を投与することによって、運動に伴うアミノ酸の消耗を抑制し、運動に伴う疲労の誘発等を抑制できる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】VAAMのアミノ酸組成(モル%) (A)と運動疲労時の血中アミノ酸の減少量( $\mu$ モル/L) (B)の関係を示す図面である。

【図2】図1に示した運動疲労に伴う血中アミノ酸の減少率(%)とVAAM中のアミノ酸含有量(モル%)との相関関係を示す。図中の番号は、VAAM中のアミノ酸含有量の高いものから順に付してある。\*は、減少量に有意差を示したアミノ酸を示している。

【図3】本発明の組成物(HVAAM又はVAAM)を、遊泳前にマウスに投与し、遊泳後に測定したマウスの血中乳酸値(平均値)を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

【図4】本発明の組成物(HVAAM又はVAAM)を、遊泳前にマウスに投与し、遊泳後に測定したマウス

の血糖(グルコース)値(平均値)を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

【図5】本発明の組成物(HVAAM又はVAAM)を、遊泳前にマウスに投与し、遊泳後に測定したマウスの血中遊離脂肪酸値(平均値)を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

【図6】本発明の組成物(HVAAM)、CAAM、グルコース、又は蒸留水を、遊泳前にマウスに投与し、遊泳後に測定したマウスの血中全アミノ酸濃度の減少を示すグラフである。

【図7】本発明の組成物(HVAAM)、CAAM、グルコース、又は蒸留水を、遊泳前にマウスに投与し、遊泳後に測定したマウスの血中の各アミノ酸濃度の変動を示すグラフである。

【図8】本発明の組成物(VAAM)、CAAM、又は蒸留水を、ラットに投与し、所定時間、運動させた群(a)と運動させなかった群(b)について測定したラットの血中グルコース濃度(平均値)の経時変化を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

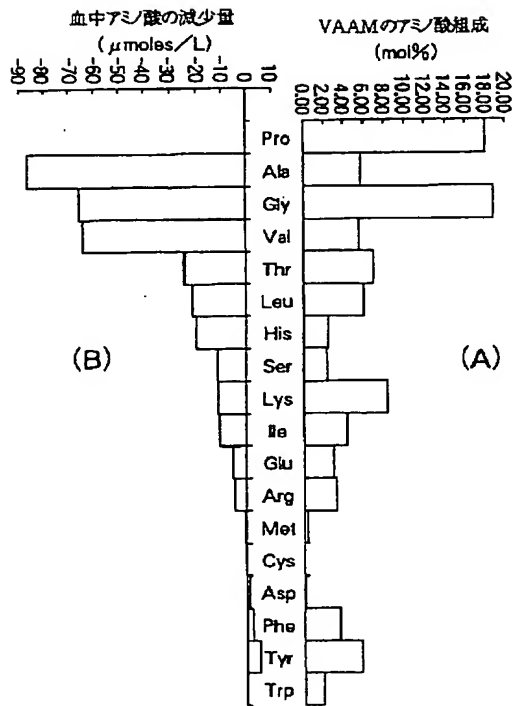
【図9】本発明の組成物(VAAM)、CAAM、又は蒸留水を、ラットに投与し、所定時間、運動させた群(a)と運動させなかった群(b)について測定したラットの血中乳酸濃度(平均値)の経時変化を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

【図10】本発明の組成物(VAAM)、CAAM、又は蒸留水を、ラットに投与し、所定時間、運動させた群(a)と運動させなかった群(b)について測定したラットの血中非エステル化脂肪酸濃度(平均値)の経時変化を示すグラフである。垂直のバーは標準誤差を示す。

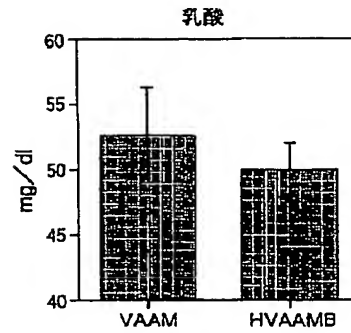
【図11】本発明の組成物(VAAM)、CAAM又は蒸留水をラットに投与し、所定時間、運動させた群について測定したラットの血中アミノ酸濃度の変化を示すグラフである。黒バーはVAAM投与群、斜線バーはCAAM投与群、白バーは蒸留水投与群ラットの血中各アミノ酸濃度を示す。(a)は、投与前、(b)は、投与30分後(ランニング0分)、(c)は、45分ランニング後、及び(d)は、90分ランニング後の血中アミノ酸組成を示す。\*は、VAAM投与群と比較して有意差( $p < 0.05$ )があることを示す。

【図12】本発明の組成物(VAAM)、CAAM又は蒸留水をラットに投与し、所定時間、運動させなかった群について測定したラットの血中アミノ酸濃度の変化を示すグラフである。黒バーはVAAM投与群、斜線バーはCAAM投与群、白バーは蒸留水投与群ラットの血中各アミノ酸濃度を示す。(a)は、投与前、(b)は、投与30分後、(c)は、投与75分後、及び(d)は、投与120分後の血中アミノ酸組成を示す。\*は、VAAM投与群と比較して有意差( $p < 0.05$ )があることを示す。

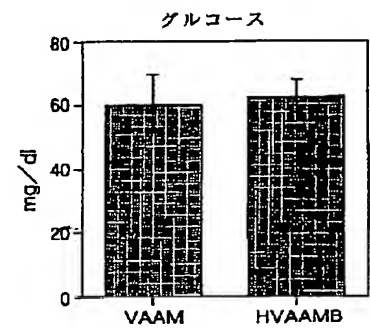
【図 1】



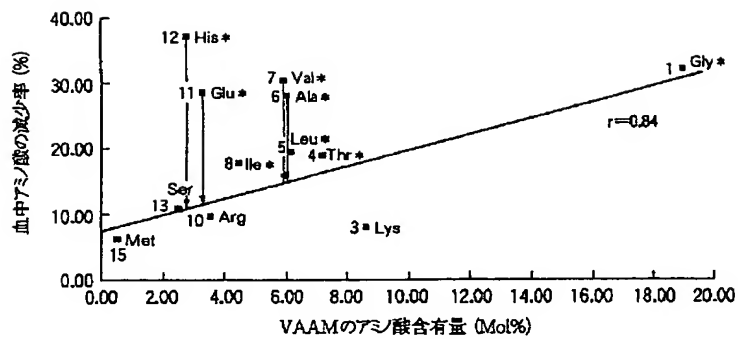
【図 3】



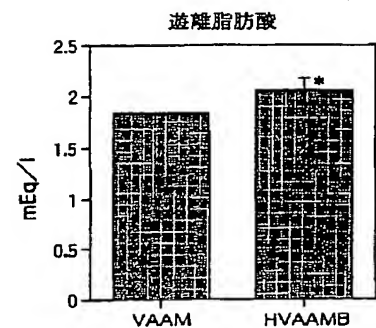
【図 4】



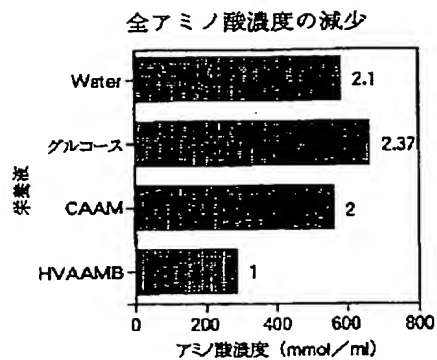
【図 2】



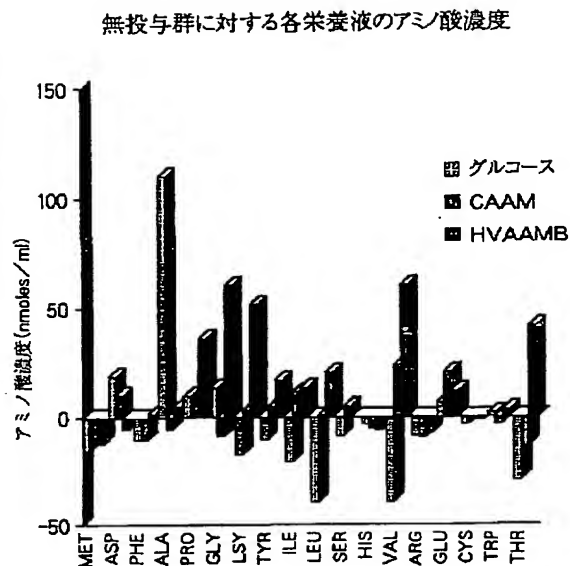
【図 5】



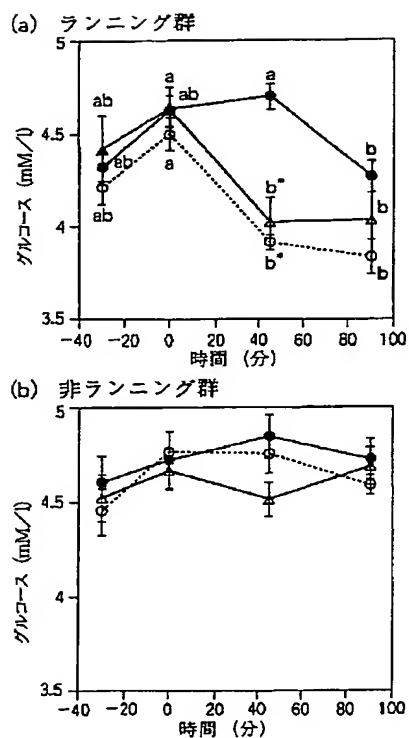
【図6】



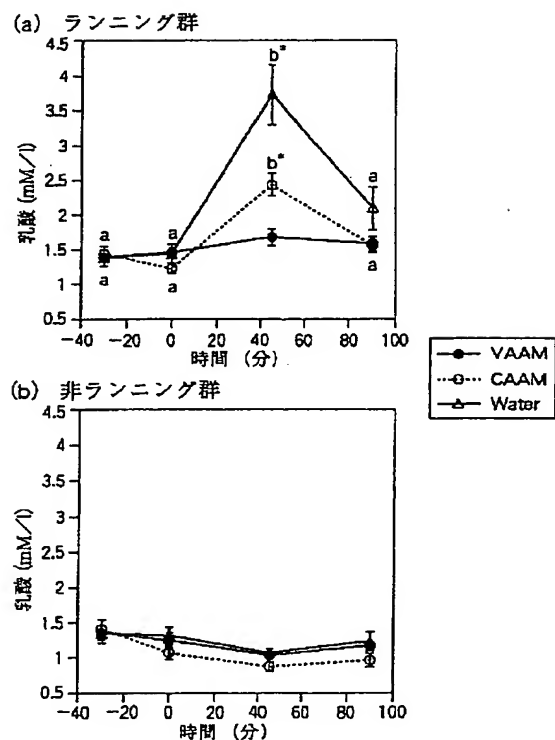
【図7】



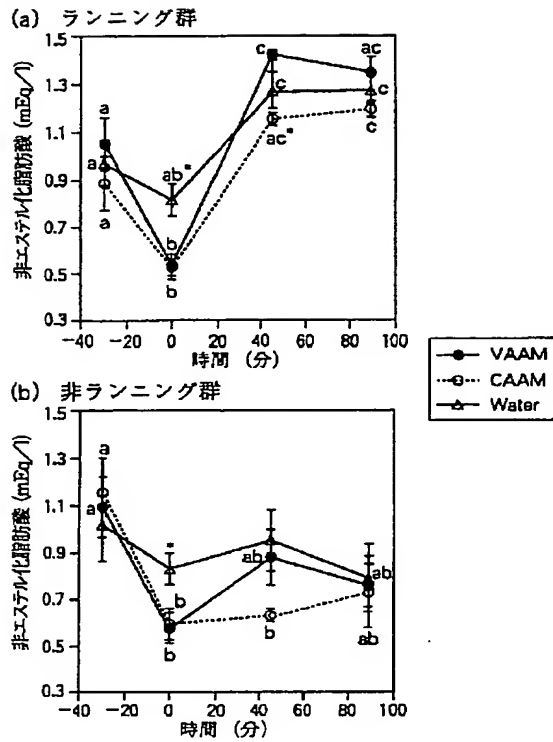
【図8】



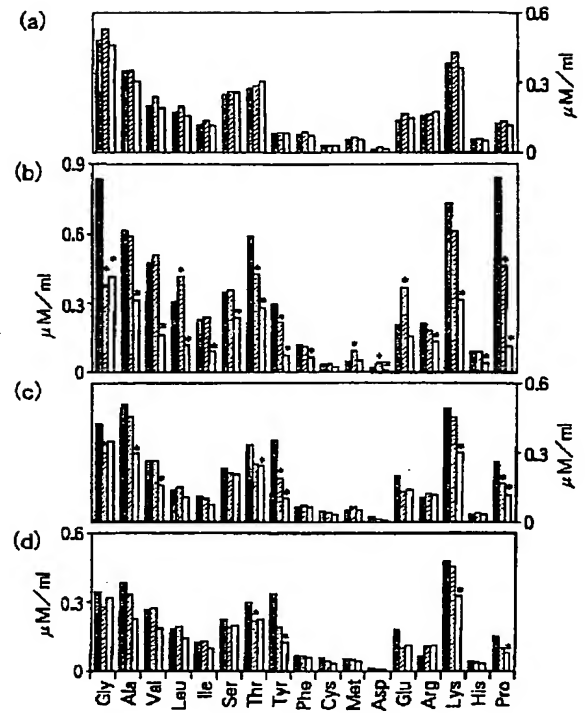
【図9】



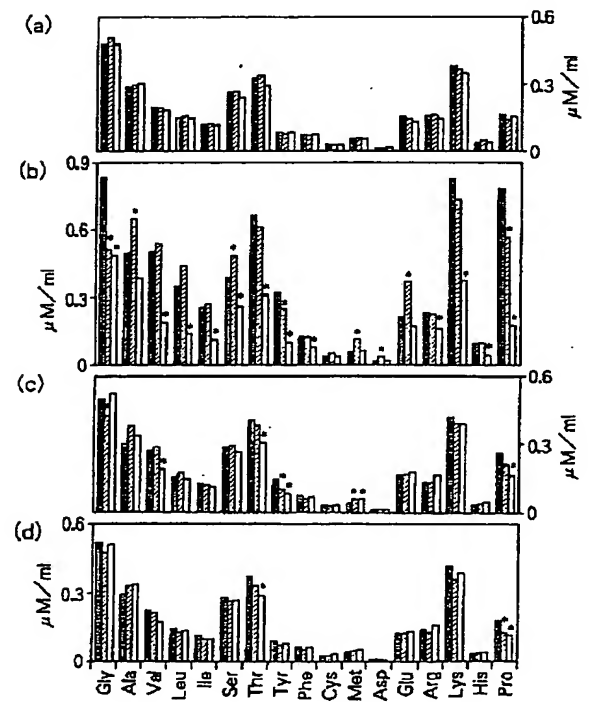
【図 10】



【図 11】



【図 12】



## 【手続補正書】

【提出日】平成9年3月27日

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

## \*【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記のアミノ酸を下記のモル比で含むアミノ酸組成物。

\*

プロリン	12.6～23.4	モル
アラニン	8.4～15.6	モル
グリシン	13.3～24.9	モル
バリン	8.2～15.4	モル
スレオニン	5.0～9.4	モル
ロイシン	4.3～8.1	モル
ヒスチジン	1.8～11.9	モル
セリン	1.7～3.3	モル
リジン	6.0～11.2	モル
イソロイシン	3.1～5.9	モル
グルタミン酸	2.2～10.4	モル
アルギニン	2.4～4.6	モル
フェニルアラニン	2.6～5.0	モル
チロシン	4.2～7.8	モル
トリプトファン	1.5～2.9	モル

【請求項2】 ヒスチジンのモル比が6.4～11.9モル、グルタミン酸のモル比が5.6～10.4モルである請求項1記載のアミノ酸組成物。

【請求項3】 請求項1又は2記載のアミノ酸組成物を含有する補液。

## 【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

プロリン

アラニン

グリシン

バリン

スレオニン

ロイシン

ヒスチジン

セリン

リジン

イソロイシン

グルタミン酸

アルギニン

フェニルアラニン

チロシン

トリプトファン

※【補正対象項目名】0006

【補正方法】変更

【補正内容】

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明は、下記のアミノ酸を下記のモル比で含むアミノ酸組成物（以下「HVAAM」ということもある。）である。

※	12.6～23.4	モル
	8.4～15.6	モル
	13.3～24.9	モル
	8.2～15.4	モル
	5.0～9.4	モル
	4.3～8.1	モル
	1.8～11.9	モル
	1.7～3.3	モル
	6.0～11.2	モル
	3.1～5.9	モル
	2.2～10.4	モル
	2.4～4.6	モル
	2.6～5.0	モル
	4.2～7.8	モル
	1.5～2.9	モル

## 【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正内容】

【0007】本発明はまた、HVAAMを哺乳動物に投与することを特徴とする運動に伴う血中アミノ酸濃度の

変動を抑制する方法を提供するものである。本発明はさらに、VAAMのアミノ酸組成、又はその各構成アミノ酸のモル比の±30%（好ましくは±20%、さらに好ましくは±10%）の範囲内の割合でアミノ酸を含む組成物、すなわち、下記のアミノ酸を下記のモル比で含む、運動に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制するためのアミノ酸組成物（以下これらのアミノ酸組成物を総称

して「VAAM」ということもある。) 、及びこのアミノ酸組成物を哺乳動物に投与することを特徴とする運動\*

\*に伴う血中アミノ酸濃度の変動を抑制する方法を提供するものである。

プロリン	12.6	23.4	モル
アラニン	4.2	7.8	モル
グリシン	13.3	24.9	モル
バリン	4.1	7.7	モル
スレオニン	5.0	9.4	モル
ロイシン	4.3	8.1	モル
ヒスチジン	1.8	3.8	モル
セリン	1.7	3.3	モル
リジン	6.0	11.2	モル
イソロイシン	3.1	5.9	モル
グルタミン酸	2.2	4.2	モル
アルギニン	2.4	4.6	モル
フェニルアラニン	2.6	5.0	モル
チロシン	4.2	7.8	モル
トリプトファン	1.5	2.9	モル

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正内容】

※【0009】

【発明の実施の形態】本発明の好ましいアミノ酸組成物(HVAAM)は、下記のアミノ酸を下記のモル比で含む。

※

プロリン	14.4	21.6	モル
アラニン	9.6	14.4	モル
グリシン	15.2	23.0	モル
バリン	9.4	14.2	モル
スレオニン	5.8	8.7	モル
ロイシン	5.0	7.5	モル
ヒスチジン	2.0	11.0	モル
セリン	2.0	3.0	モル
リジン	6.8	10.4	モル
イソロイシン	3.6	5.4	モル
グルタミン酸	2.5	9.6	モル
アルギニン	2.8	4.2	モル
フェニルアラニン	3.0	4.6	モル
チロシン	4.8	7.2	モル
トリプトファン	1.7	2.7	モル

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0010

【補正方法】変更

【補正内容】

【0010】本発明の更に好ましいアミノ酸組成物(HVAAM)は、下記のアミノ酸を下記のモル比で含む。

プロリン	16.2	19.8	モル
アラニン	10.8	13.2	モル
グリシン	17.1	21.1	モル
バリン	10.6	13.0	モル
スレオニン	6.4	8.0	モル
ロイシン	5.5	6.8	モル
ヒスチジン	2.3	10.1	モル
セリン	2.2	2.8	モル
リジン	7.7	9.5	モル

イソロイシン	4. 0～	5. 0	モル
グルタミン酸	2. 8～	8. 8	モル
アルギニン	3. 1～	3. 9	モル
フェニルアラニン	3. 4～	4. 2	モル
チロシン	5. 4～	6. 6	モル
トリプトファン	1. 9～	2. 5	モル

---

フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 C 229/08		9450-4H	C 0 7 C 229/22	
229/22		9450-4H	229/24	
229/24		9450-4H	229/26	
229/26		9450-4H	229/36	
229/36		9547-4H	237/22	
237/22		9451-4H	257/14	
257/14			C 0 7 D 207/16	
C 0 7 D 207/16			A 6 1 K 37/547	